

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI INFUSA DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) SECARA *in Vitro* TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 SERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA

Yeni Dianita Sari, Sitti Nur Djannah, Laela Hayu Nurani
Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

Abstract

Background: A research has been done to test the In vitro antibacterial activities of *sirsak* leaf (*Annona muricata* L.) infuse toward *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 35218 to analyze its thin layer chromatography profile. This research done to observe the antibacterial activity from *sirsak* leaf infuse.

Method: A test on the antibacterial activity was done by using liquid dilution method. The concentration infuse in sterile destilate water using to test the antibacterial activity toward *S. aureus* were 100%, 95%, 90%, 85%, 80%, and 75% w/v, while toward *E. coli* were 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, and 50% w/v. To detect Chemical contains of the *sirsak* leaf infuse were identified using Screening method of Phytochemistry and Thin Layer Chromatography (TLC).

Result: The result showed that the Minimum Bacterial Concentration (MBC) of *sirsak* leaf infuse *S. aureus* were 85% w/v, while *E. coli* could not be show antibacterial activity until 100% w/v concentration. The Minimum Inhibition Concentration (MIC) could not be identified by the liquid dilution because the mixture were turbid and the colour is dark brown. Screening method of Phytochemistry use tube-test and Thin Layer Chromatography showed that the infuse contain flavonoid, poliphenol, and alkaloid.

Conclusion: Infuse of *sirsak* leaf (*Annona muricata* L.) has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 35218 profil infuse. Thin Layer Chromatography showed that the infuse contain flavonoid, poliphenol, and alkaloid.

Keyword: Antibacterial, *sirsak* leaf, chromatography

1. PENDAHULUAN

Manusia hidup selalu berinteraksi dengan lingkungan, lingkungan yang tidak sehat dan gaya hidup yang buruk menyebabkan kita selalu kontak dengan bakteri, virus, fungi, dan berbagai bentuk kehidupan parasit. Hal ini juga didukung dengan keadaan udara yang berdebu, temperatur yang hangat dan lembab sehingga memudahkan tumbuh suburnya mikroba. Penyakit infeksi dapat menular kepada orang lain yang sehat, kondisi sanitasi yang tidak cukup memadai merupakan salah satu cara penularan penyakit infeksi.¹

Obat-obatan yang digunakan untuk terapi penyakit infeksi biasanya berupa obat modern tetapi obat modern tersebut berisiko dengan timbulnya efek samping yang tidak diinginkan, bahkan tak jarang dapat menimbulkan resistensi bakteri. Untuk itu penggunaan obat-obatan yang berasal dari alam dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan, hal ini disebabkan karena obat tradisional relatif mudah didapat. Didukung dengan adanya bahan obat dari alam yang tumbuh berlimpah di Indonesia, sehingga penggunaan obat tradisional menjadi semakin meningkat dan berkembang luas di masyarakat.²

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif masih merupakan masalah yang sulit diatasi karena menyangkut kesadaran masyarakat terhadap kebersihan dan kesehatan.³

Penyakit diare merupakan penyakit yang sering dikeluhkan atau diderita oleh masyarakat, kasus ini terdapat di negara-negara berkembang dengan standar hidupnya rendah, dimana dehidrasi akibat diare merupakan salah satu penyebab kematian penting pada anak-anak. Diare adalah penyakit infeksi yang menyebabkan frekuensi defekasi melebihi frekuensi normal dengan konsentrasi feses encer bahkan bercampur lendir dan darah. Diare dapat disebabkan karena enterotoksin atau racun yang dihasilkan oleh bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* melalui bahan makanan dan minuman yang terinfeksi oleh banyak kuman, menjadi invasif dan menyerbu ke dalam mukosa. Bakteri-bakteri ini memperbanyak diri dan membentuk toksin yang dapat diresorpsi ke dalam darah dan menimbulkan gejala hebat, seperti nyeri kepala, dan kejang-kejang, disamping menses berdarah dan berlendir. Selain itu juga bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan flora normal pada kulit dan saluran cerna manusia yang pada keadaan tertentu bisa menyebabkan diare dan menjadi pathogen.³

Salah satu jenis tanaman obat yang digunakan secara tradisional sebagai obat diare adalah *Annona muricata* L. atau yang lebih dikenal dengan nama sirsak. Kegunaan sirsak adalah sebagai antibakteri, antivirus, antiparasit, kardiotonik, dekongestan, menurunkan panas, penenang, membasmi kutu, dan sebagai obat cacing.⁴ Daun sirsak mengandung saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid, yang mana senyawa ini dapat berfungsi sebagai desinfektan-antiseptik, sehingga dapat dimungkinkan bahwa tanaman yang mengandung senyawa ini dapat digunakan sebagai antibakteri khususnya untuk mengobati penyakit diare.⁵

Untuk menguji kebenaran khasiat sirsak (*Annona muricata* L.) secara ilmiah sebagai antibakteri perlu dilakukan uji aktivitas infusa daun sirsak terhadap *Staphylococcus aureus* yang mewakili Gram positif dan *Escherichia coli* yang mewakili Gram negatif. Selain itu, juga perlu dilakukan identifikasi komponen golongan senyawa kimia dalam tanaman sirsak.

2. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1) Alat

- a) Alat yang digunakan untuk pembuatan infusa yaitu panci infusa, termometer, penangas air, labu ukur, corong, kain flannel, dan alat-alat gelas.
- b) Alat-alat untuk uji mikrobiologi yaitu inkubator 37⁰ C, rak tabung, tabung reaksi, cawan petri, mikropipet, ose steril, *yellow tip* dan *blue tip*, dan lampu Bunsen.
- c) Alat untuk Kromatografi Lapis Tipis yaitu bejana kromatografi, pipet kapiler, pipet ukur, lampu ultraviolet, lempeng silika gel GF, dan alat penyemprot.

2) Bahan

- a) Bahan
Daun sirsak (*Annona muricata* L.) diambil pada bulan Oktober 2006 dari

- daerah Bulaksumur, Yogyakarta.
- b) Bakteri Uji'
Staphylococcus aureus ATCC 25923 mewakili Gram positif dan *Escherichia coli* ATCC 35218 mewakili Gram negatif yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Kedokteran UGM Yogyakarta.
 - c) Bahan Penyari
 Bahan penyari yang digunakan adalah aquadest steril.
 - d) Bahan Uji Daya Antibakteri
 Bahan murni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, bahan murni *Escherichia coli* ATCC 35218, media *Brain Heart Infusion* (BHI), media *Brain Heart Infusion Double Strength* (BHI DS), aquadest steril, media Mc. Conkey, media Agar Darah, standar Mc. Farland, dan kloramfenikol.
 - e) Bahan Untuk Kromatografi Lapis Tipis
 - 1) Fase diam : Silika gel GF₂₅₄
 - 2) Deteksi : AlCl_3 , FeCl_3 , dan pereaksi semprot Dragendorff.
 - 3) Fase gerak : Metanol-asam formiat (100:1,5), etil asetat-asam formiat-asam asetat-air (100:11:11:27), dan etil asetat-metanol-asam formiat (60:30:10).

B. Prosedur Penelitian

1) Pengumpulan dan Penyiapan Bahan

Sampel berupa daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diambil pada bulan Oktober 2006 dari daerah Bulaksumur, Yogyakarta. Daun sirsak yang diambil, dibersihkan dari kotoran yang menempel, dicuci dengan air mengalir setelah itu dikeringkan dengan sinar matahari menggunakan bantuan kain hitam yang sebelumnya diangin-anginkan terlebih dahulu. Setelah kering maka daun diserbuk dan siap untuk diteliti.

2) Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman daun sirsak (*Annona muricata* L.) di lakukan di Laboratorium Farmakognosi Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, menggunakan buku acuan Van Steenis 1997.⁶

3) Pembuatan Infusa Daun Sirsak

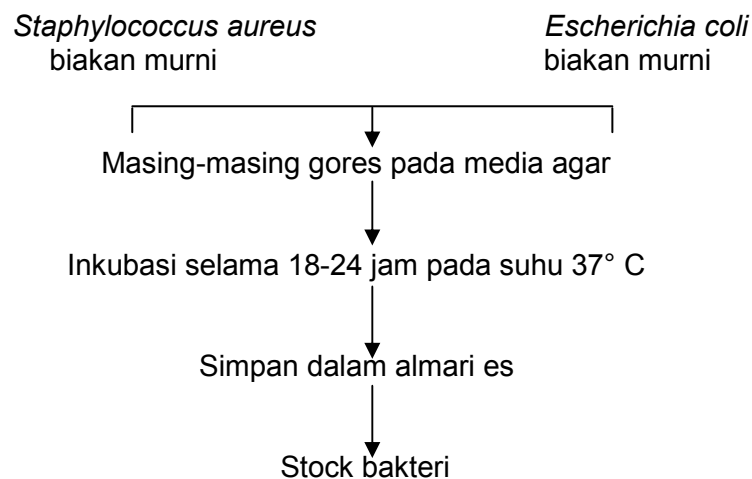
Infusa dibuat dari daun sirsak 10% b/v dengan cara sebagai berikut: daun sirsak seberat 10 gram kemudian dimasukkan ke dalam panci infusa, ditambahkan aquadest 120 ml (100 ml + 20 ml air ekstra). Daun sirsak yang telah ditambahkan aquadest dipanaskan menggunakan pemanas air selama 15 menit terhitung setelah suhu dalam panci mencapai 90°C, sambil sesekali diaduk. Diserkai selagi panas dengan menggunakan kain flanel, dijadikan 100 ml infusa. Jika volumenya kurang dari 100 ml dapat ditambahkan air panas yang dilewatkan pada ampas daun hingga diperoleh 100 ml infusa daun sirsak. Infusa dipekatkan sampai volume 5 ml (200% b/v) sebagai *stock* dan disterilkan dengan *autoclave* 121°C selama 15–20 menit. Larutan *stock* tersebut kemudian diencerkan sampai dengan seri kadar yang dikehendaki.

4) Uji Mikrobiologi

a) Sterilisasi Aat dan Bahan

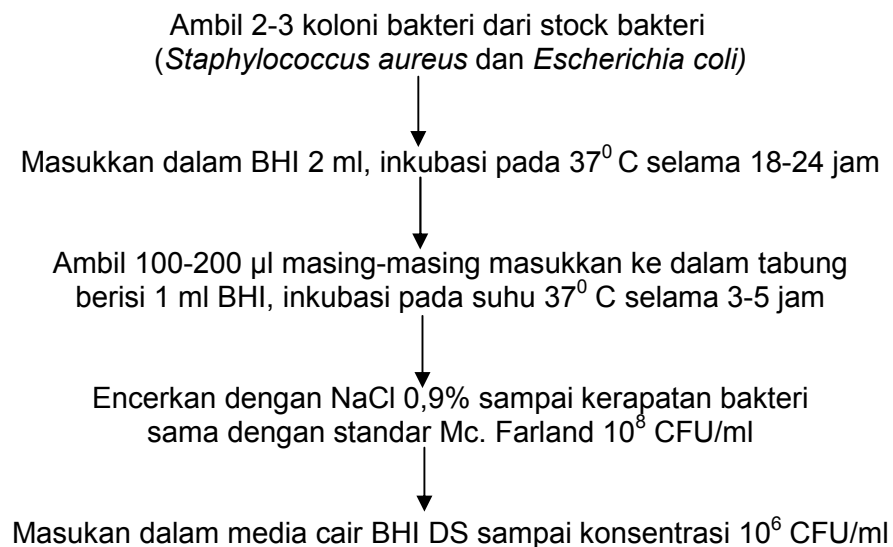
Semua peralatan yang akan digunakan dicuci bersih, dikeringkan dibungkus kertas dan disterilkan dengan oven pada suhu 200°C selama 1–2 jam dan bahan yang akan digunakan untuk uji mikrobiologi disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15–20 menit.

b) Penyiapan *Stock* Bakteri



Gambar 2. Skema Penyiapan *Stock* Bakteri

c) Penyiapan Suspensi Bakteri



Gambar 3. Skema Pembuatan Suspensi Bakteri

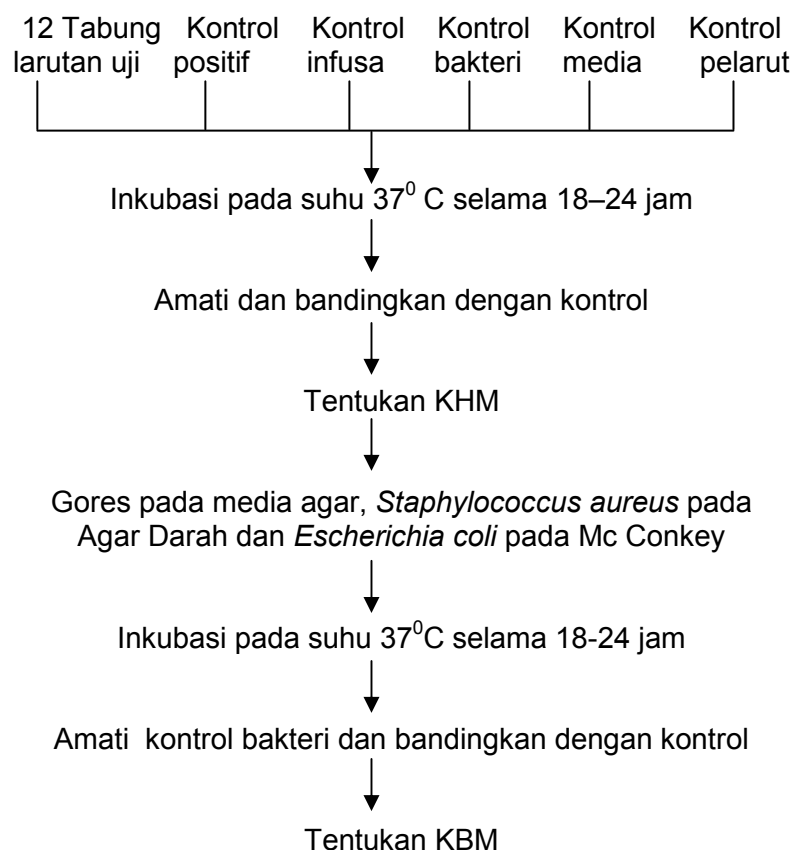
d) Penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Untuk mencari KHM dilakukan dengan cara: pada tabung uji dimasukkan infusa dan diinkubasi bersama bakteri pada suhu 37⁰ C selama 18-24 jam. Kemudian diamati ada tidaknya kekeruhan larutan uji dibandingkan dengan kontrol. Kadar infusa dalam larutan uji adalah 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, dan 100% b/v untuk sampel yang akan diuji dengan *S.aureus*, sedangkan untuk *E. coli* dengan kadar sampel 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% b/v. Pembuatan larutan sampel dalam berbagai konsentrasi adalah sebagai berikut: disiapkan 12 tabung (6 tabung untuk larutan uji *S. aureus* dan 6 tabung lagi untuk *E. coli*), untuk masing-masing tabung dilarutkan sampel dengan volume tertentu dengan aquadest steril dalam volume tertentu hingga didapatkan konsentrasi yang diinginkan.

Penentuan KBM dilakukan dengan cara pada masing-masing tabung uji tersebut digoreskan pada media Agar Darah untuk *Staphylococcus aureus* dan pada media agar Mc. Conkey untuk *Escherichia coli*, kemudian dilihat ada tidaknya pertumbuhan bakteri dan bandingkan dengan kontrol. Untuk lebih jelasnya cara kerja penentuan KHM dan KBM dapat dilihat pada gambar 4.

Cara kerja untuk perlakuan terhadap bakteri *S. aureus* yaitu:

- 1) Disiapkan 6 tabung reaksi steril, selanjutnya membuat konsentrasi awal.
- 2) Tabung 1 diisi 0,5 ml infusa 200% b/v dan 0,5 ml suspensi bakteri.
- 3) Tabung 2 diisi 0,5 ml infusa 190% b/v dan 0,5 ml suspensi bakteri.
- 4) Tabung 3 diisi 0,5 ml infusa 180% b/v dan 0,5 ml suspensi bakteri.
- 5) Tabung 4 diisi 0,5 ml infusa 170% b/v dan 0,5 ml suspensi bakteri.
- 6) Tabung 5 diisi 0,5 ml infusa 160% b/v dan 0,5 ml suspensi bakteri.
- 7) Tabung 6 diisi 0,5 ml infusa 150% b/v dan 0,5 ml suspensi bakteri.
- 8) Cara kerja untuk perlakuan terhadap bakteri *E. coli* yaitu:
- 9) Disiapkan 6 tabung reaksi steril, selanjutnya membuat konsentrasi awal.
- 10) Tabung 1 diisi 0,5 ml infusa 200% b/v dan 0,5 ml suspensi bakteri.
- 11) Tabung 2 diisi 0,5 ml infusa 180% b/v dan 0,5 ml suspensi bakteri.
- 12) Tabung 3 diisi 0,5 ml infusa 160% b/v dan 0,5 ml suspensi bakteri.
- 13) Tabung 4 diisi 0,5 ml infusa 140% b/v dan 0,5 ml suspensi bakteri.
- 14) Tabung 5 diisi 0,5 ml infusa 120% b/v dan 0,5 ml suspensi bakteri.
- 15) Tabung 6 diisi 0,5 ml infusa 100% b/v dan 0,5 ml suspensi bakteri.
- 16) Cara kerja untuk kontrol yaitu sebagai berikut:
 - a) Disiapkan 7 tabung reaksi steril, selanjutnya membuat kontrol.
 - b) Tabung 1 diisi BHI DS 0,5 ml dan 0,5 ml aquades steril (kontrol pelarut).
 - c) Tabung 2 diisi BHI DS 0,5 ml dan 0,5 ml infusa 100% b/v (kontrol infusa).
 - d) Tabung 3 diisi 1 ml BHI DS (kontrol media).
 - e) Tabung 4 dan 5 diisi 0,5 ml kloramfenikol 0,125% b/v dan 0,5 ml suspensi bakteri (*S.aureus* atau *E. coli*) (kontrol positif).
 - f) Tabung 6 dan 7 diisi 1 ml suspensi bakteri (*S. aureus* atau *E. coli*) (kontrol bakteri).



Gambar 4. Skema Pembuatan KHM dan KBM

5) Skrining Fitokimia

Skrining Fitokimia dengan menggunakan uji tabung dilakukan berdasarkan acuan buku “Petunjuk Praktikum Analisa Obat Tradisional” karangan Nurani tahun 2006.⁷

a) Pemeriksaan Pendahuluan

Serbuk daun sirsak dalam tabung reaksi sebanyak 2 gram dipanaskan dengan aquades 10 ml menggunakan penangas air mendidih selama 30 menit, larutan yang terjadi kemudian disaring. Larutan yang dihasilkan tersebut berwarna kuning sampai merah yang menunjukkan adanya senyawa yang mengandung gugus kromofor (flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin). Tambahkan 3 tetes KOH maka warna akan menjadi lebih intensif.

b) Pemeriksaan Alkaloid

Serbuk sebanyak 2 gram dipanaskan dalam tabung reaksi besar dengan HCl 1% 10 ml selama 30 menit dalam tangas air mendidih. Suspensi disaring dengan kapas ke dalam tabung reaksi I dan tabung reaksi II sama banyak. Larutan I dibagi dua sama banyak, lalu tambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff kedalam tabung Ia dan larutan Ib ditambah pereaksi 3 tetes Meyer. Terbentuknya endapan dengan kedua pereaksi tersebut berarti menunjukkan adanya alkaloid. Adanya alkaloid dari basa tertier atau kuarterner dapat ditunjukkan dengan penambahan serbuk natrium karbonat sampai pH 8-9. Kemudian

dicampur dengan kloroform 4 ml, diaduk pelan-pelan. Setelah kloroform memisah, diambil dengan pipet dan ditambahkan asam cuka 5% sampai pH 5 diaduk lalu dipisahkan lapisan atas dengan pipet. 5 tetes pereaksi Dragendorff ditambahkan pada lapisan atas, terbentuknya endapan menunjukkan adanya alkaloid dari basa kurterner kemudian lapisan bawah ditambah HCl 1% 10 tetes, diaduk dan dipisahkan lapisan atas serta ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff. Terbentuknya endapan menunjukkan adanya alkaloid dari basa tertier.

c) Pemeriksaan Polifenol

Sebanyak 500 mg serbuk dipanaskan dengan air 10 ml selama 30 menit di atas tangas air mendidih, disaring panas-panas setelah dingin ditambah pereaksi FeCl_3 sebanyak 3 tetes. Terjadinya warna hijau biru menunjukkan adanya polifenol. Uji diulang dengan filtrat hasil pendidihan 500 mg simplisia dengan etanol 80% 5 ml selama 1 menit dalam tangas air.

d) Pemeriksaan Saponin

Serbuk daun sirsak sebanyak 100 miligram ditambahkan aquades 10 ml dan dikocok kuat-kuat selama 30 menit sampai muncul busa setinggi 3 cm dalam tabung reaksi. Letakkan tabung reaksi dalam posisi tegak selama 30 menit. Apabila masih terdapat busa, maka kemungkinan mengandung saponin. Untuk memastikan bahwa busa yang terbentuk berasal dari saponin dan bukan berasal dari tumbuhan maka teteskan larutan asam sebanyak 3 tetes. Bila busa stabil maka dipastikan terdapat saponin.

e) Pemeriksaan Tannin

Serbuk daun sirsak dalam tabung reaksi sebanyak 500 miligram dipanaskan dengan aquades sebanyak 10 ml selama 30 menit menggunakan tangas air, larutan yang terjadi kemudian disaring. Filtrat ditambahkan 1 ml larutan NaCl 2%, bila terjadi suspensi endapan disaring melalui kertas saring. Kemudian filtrat yang didapat ditambahkan 2 ml larutan gelatin 1%. Terbentuknya endapan menunjukkan adanya tanin.

6) Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Infusa daun sirsak diidentifikasi golongan senyawa yang terkandung di dalamnya dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis. Identifikasi kandungan senyawa kimia dalam infusa daun sirsak dilakukan untuk 3 macam senyawa yaitu senyawa flavonoid, polifenol, dan alkaloid. Larutan cuplikan dibuat dengan cara membuat infusa. Sediaan infusa daun sirsak dikeringkan, kemudian untuk deteksi senyawa flavonoid dan polifenol maka sampel dilarutkan dalam metanol, panaskan pada suhu 60°C . Kemudian digojoy setelah itu totolkan pada plat kromatografi. Sedangkan untuk deteksi alkaloid setelah infusa dikeringkan dilarutkan dalam amonia 10%. Kemudian digojoy, ambil fase basanya dan ekstraksi dengan kloroform. Ambil fase kloroform dan diuapkan, setelah itu totolkan pada plat kromatografi. Tiap plat dimasukkan dalam bejana pengembang yang telah jenuh dengan fase gerak masing-masing. Lalu elusi sampai batas, angkat dan kemudian keringkan dengan bantuan kipas angin. Diamati di $\text{UV}_{254 \text{ nm}}$, $\text{UV}_{366 \text{ nm}}$, dan disemprot dengan pereaksi semprot. Untuk flavonoid disemprot dengan AlCl_3 , untuk polifenol disemprot dengan FeCl_3 , dan untuk alkaloid disemprot dengan Dragendorff. Fase gerak yang digunakan untuk

deteksi flavonoid digunakan fase gerak etil asetat-asam formiat-asam asetat-air (100:11:11:27), deteksi polifenol digunakan fase gerak etil asetat-metanol-asam formiat (60:30:10), dan deteksi alkaloid yaitu dengan methanol-asam formiat (100:1,5).⁸

Deteksi flavonoid dengan :

- 1) Fase diam : Silika gel GF₂₅₄
- 2) Fase gerak : Etil asetat - asam formiat - asam asetat - air (100:11:11:27)
- 3) Deteksi : Sinar UV_{254 nm}, UV_{366 nm}, pereaksi semprot AlCl₃
- 4) Pembanding : Rutin

Deteksi polifenol dengan:

- 1) Fase diam : Silika gel GF₂₅₄
- 2) Fase gerak : Etil asetat-metanol-asam formiat (60:30:10)
- 3) Deteksi : Sinar UV_{254 nm}, UV_{366 nm}, pereaksi semprot FeCl₃

Deteksi alkaloid dengan:

- 1) Fase diam : Silika gel GF₂₅₄
- 2) Fase gerak : Metanol-asam formiat (100:1,5)
 - a) Deteksi : Sinar UV_{254 nm}, UV_{366 nm}, pereaksi Dragendorff
 - b) Pembanding : Kuinin

7) Analisis Data

a) Uji Antibakteri

KHM ditetapkan berdasarkan keruh atau tidaknya masing-masing sampel dalam tabung uji. Pada metode dilusi cair ini masing-masing sampel dalam tabung uji digoreskan pada media Mc. Conkey untuk *E. coli* dan Agar Darah untuk *S. aureus* dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol, KBM ditetapkan berdasarkan ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada media agar dalam cawan petri.

b) Analisis KLT

Bercak yang timbul sebelum disemprot dapat dilihat di bawah UV_{254 nm}- dan UV_{366 nm} warna yang timbul nantinya dapat diamati. Selanjutnya lempeng dapat disemprot dengan penyemprot yang sesuai dan bandingkan dengan literatur atau pustaka serta perhitungan Rf bercak.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Uji Pendahuluan Aktivitas Antibakteri

Tabel 1. Hasil Uji Pendahuluan Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak Terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

No.	Kadar (% b/v)	Hasil Uji			
		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>	
		Keruh/jernih	Pertumbuhan koloni	Keruh/jernih	Pertumbuhan koloni
I	100	K	-	K	+
II	90	K	-	K	+
III	80	K	+	K	+
IV	70	K	+	K	+
V	60	K	+	K	+
VI	50	K	+	K	+
VII	K ₁	J	-	J	-
VIII	K ₂	J	-	J	-
IX	K ₃	K	-	K	-
X	K ₄	J	-	J	-
XI	K ₅	K	+	K	+

Keterangan:

- | | |
|-----------------------------|---|
| I. Konsentrasi sampel 100% | VII. K ₁ = Kontrol pelarut |
| II. Konsentrasi sampel 90% | VIII. K ₂ = Kontrol media |
| III. Konsentrasi sampel 80% | IX. K ₃ = Kontrol infusa |
| IV. Konsentrasi sampel 70% | X. K ₄ = Kontrol positif |
| V. Konsentrasi sampel 60% | XI. K ₅ = Kontrol suspensi bakteri |
| VI. Konsentrasi sampel 50% | |
| J = Jernih | + = Tumbuh koloni |
| K = Keruh | - = Tidak tumbuh koloni |

Uji pendahuluan aktivitas antibakteri infusa daun sirsak perlu dilakukan untuk mengetahui apakah infusa daun sirsak tersebut memiliki aktivitas antibakteri, dan juga untuk mengetahui konsentrasi terendah dari larutan uji yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri. Uji pendahuluan dilakukan terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 yang mewakili Gram positif dan *E. coli* ATCC 35218 yang mewakili Gram negatif. Uji pendahuluan infusa daun sirsak dilakukan dengan membuat variasi seri kadar sehingga diperoleh kadar akhir 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% b/v. Pada uji pendahuluan Kadar Hambat Minimum (KHM) pada tiap larutan uji tidak dapat diamati kekeruhan atau kejernihan, hal ini disebabkan karena larutan sampel berwarna coklat tua, sedangkan pada uji pendahuluan infusa daun sirsak menunjukkan bahwa Kadar Bunuh Minimum (KBM) terhadap *S. aureus* adalah 90% b/v, sedangkan pada *E. coli* sampai pada kadar 100% b/v infusa daun sirsak tidak juga menunjukkan aktivitas antibakterinya atau tidak mampu membunuh sehingga Kadar Bunuh Minimum (KBM) tidak dapat ditentukan.

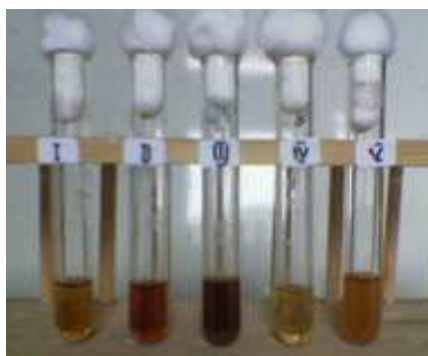
B. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri infusa daun sirsak terhadap *S. aureus* ATCC 25923 yang mewakili gram positif dan *E. coli* ATCC 35218 yang mewakili Gram negatif dilakukan dengan metode dilusi cair

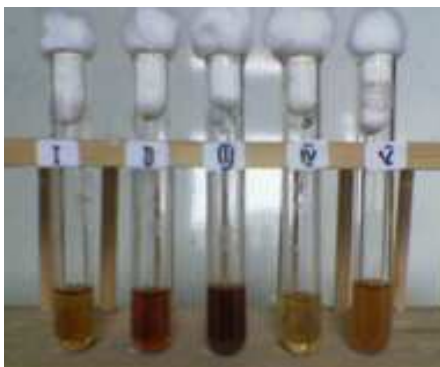
Pada pemeriksaan aktivitas antibakteri secara dilusi cair digunakan beberapa kontrol sebagai pembandingan yaitu, kontrol media yang berisi media BHI DS, kontrol pelarut yang berisi aquades steril dan BHI DS, kontrol bakteri yang berisi suspensi bakteri (*S. aureus* atau *E. coli*), kontrol negatif yang berisi infusa dengan konsentrasi 100% b/v dan BHI DS, dan kontrol positif yang berisi kloramfenikol 0,125% b/v yang ditambahkan suspensi bakteri.

Penetapan KHM pada pengujian antibakteri dengan metode dilusi cair, parameter yang digunakan adalah kekeruhan (ada pertumbuhan bakteri) dan kejernihan (tidak ada pertumbuhan bakteri), yang terlihat setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Nilai KHM ditentukan dengan mengamati kadar terkecil yang masih jernih yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Pada penelitian ini, KHM sulit untuk diamati karena larutan uji berwarna coklat tua, sehingga adanya kekeruhan akibat pertumbuhan bakteri tidak dapat diamati, maka dilakukan penggoresan larutan uji hasil dilusi cair pada media pertumbuhan yang sesuai. Untuk *S. aureus* menggunakan media Agar Darah dan untuk *E. coli* menggunakan media Mc Conkey.

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923 menunjukkan bahwa infusa daun sirsak dengan konsentrasi 85% b/v dapat membunuh pertumbuhan bakteri. Namun karena KHM sulit untuk diamati pada larutan uji, maka dilakukan penggoresan larutan uji hasil dilusi cair pada media pertumbuhan Agar Darah. Media padat Agar Darah merupakan media padat yang kaya akan zat-zat kimia dan zat anorganik tingkat tinggi yang berasal dari makhluk hidup yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri. Jika bakteri tumbuh maka akan terlihat koloni bakteri pada goresan di media Agar Darah dan bisa juga ditandai dengan adanya daerah bening disekitar pertumbuhan bakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri infusa daun sirsak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* secara dilusi cair dapat dilihat pada gambar 5 dan gambar 6 untuk kontrol. Sedangkan hasil uji aktivitas antibakteri infusa daun sirsak yang dapat membunuh *S. aureus* dapat dilihat pada gambar 7 dan gambar 8 untuk kontrol.



Gambar 5. Hasil uji aktivitas antibakteri infusa daun sirsak terhadap *S. aureus* ATCC 25923 secara dilusi cair



Gambar 6. Hasil Uji Kontrol Infusa Daun Sirsak Terhadap Bakteri *S. aureus* ATCC 25923 Secara Dilusi Cair

Keterangan:

- I. Konsentrasi 100% b/v
- II. Konsentrasi 95% b/v
- III. Konsentrasi 90% b/v
- IV. Konsentrasi 85% b/v
- V. Konsentrasi 80% b/v
- VI. Konsentrasi 75% b/v

- K₁ = Kontrol pelarut
- K₂ = Kontrol media
- K₃ = Kontrol infusa
- K₄ = Kontrol positif
- K₅ = Kontrol suspensi bakteri *S. Aureus* ATCC 25923



Gambar 7. Hasil Uji Penentuan KBM Infusa Daun Sirsak Terhadap *S. aureus* ATCC 25923 Pada Media Agar Darah



Gambar 8. Hasil uji penentuan KBM Kontrol Infusa Daun Sirsak Terhadap *S. aureus* ATCC 25923

Keterangan:

- | | |
|--------------------------|---|
| I. Konsentrasi 100% b/v | K ₁ = Kontrol pelarut |
| II. Konsentrasi 95% b/v | K ₂ = Kontrol media |
| III. Konsentrasi 90% b/v | K ₃ = Kontrol infusa |
| IV. Konsentrasi 85% b/v | K ₄ = Kontrol positif |
| V. Konsentrasi 80% b/v | K ₅ = Kontrol suspensi bakteri <i>S. aureus</i> ATCC 25923 |
| VI. Konsentrasi 75% b/v | |

Hasil uji penentuan Kadar Bunuh Minimum (KBM) infusa daun sirsak dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Penentuan KBM Infusa Daun Sirsak Terhadap *S. aureus* ATCC 25923

No.	Kadar (% b/v)	Hasil pengamatan		
		Petri I	Petri II	Petri III
I.	100	-	-	-
II.	95	-	-	-
III.	90	-	-	-
IV.	85	-	-	-
V.	80	+	+	+
VI.	75	+	+	+
VII.	K ₁	-	-	-
VIII.	K ₂	-	-	-
IX.	K ₃	-	-	-
X.	K ₄	-	-	-
XI.	K ₅	+	+	+

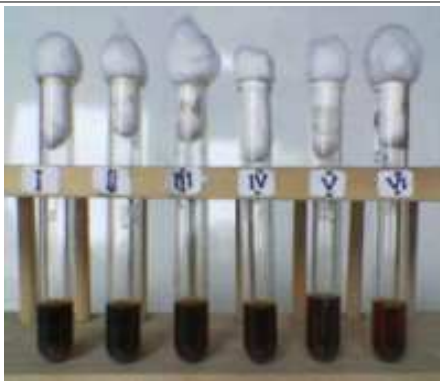
Keterangan:

- | | |
|-----------------------------|---|
| I. Konsentrasi sampel 100% | VII. K ₁ = Kontrol pelarut |
| II. Konsentrasi sampel 95% | VIII. K ₂ = Kontrol media |
| III. Konsentrasi sampel 90% | IX. K ₃ = Kontrol infusa |
| IV. Konsentrasi sampel 85% | X. K ₄ = Kontrol positif |
| V. Konsentrasi sampel 80% | XI. K ₅ = Kontrol suspensi <i>S. aureus</i> ATCC 25923 |
| VI. Konsentrasi sampel 75% | |

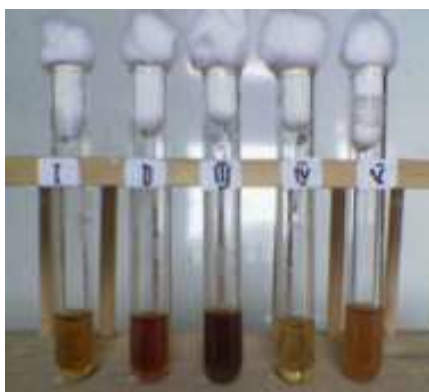
+ = Tumbuh koloni

- = Tidak tumbuh koloni

Hasil uji aktivitas antibakteri infusa daun sirsak terhadap *E. coli* ATCC 35218 menunjukkan bahwa sampai pada konsentrasi 100% b/v tidak mampu membunuh pertumbuhan bakteri tersebut. Begitupun juga KHM sulit untuk diamati pada larutan uji, maka dilakukan penggoresan larutan uji hasil dilusi cair pada media agar Mc Conkey, dimana media padat Mc Conkey merupakan media padat yang khas untuk kuman-kuman perut. *E. coli* merupakan bakteri yang melisis laktosa sehingga akan menampilkan warna merah. Hasil uji aktivitas antibakteri infusa daun sirsak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* secara dilusi cair dapat dilihat pada gambar 9 dan gambar 10 untuk kontrol. Sedangkan hasil uji aktivitas antibakteri infusa daun sirsak terhadap *E. coli* dapat dilihat pada gambar 11 dan gambar 12 untuk kontrol.



Gambar 9. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *E. coli* ATCC 35218 Secara Dilusi Cair



Gambar 10. Hasil Uji Kontrol Infusa Daun Sirsak Terhadap Bakteri *E. coli* ATCC 35218 Secara Dilusi Cair

Keterangan:

- I. Konsentrasi 100% b/v
- II. Konsentrasi 90% b/v
- III. Konsentrasi 80% b/v
- IV. Konsentrasi 70% b/v
- V. Konsentrasi 60% b/v
- VI. Konsentrasi 50% b/v

K₁ = Kontrol pelarut

K₂ = Kontrol media

K₃ = Kontrol infusa

K₄ = Kontrol positif

K₅ = Kontrol suspensi bakteri *E. Coli* ATCC 35218

+ = Tumbuh koloni

- = Tidak tumbuh koloni



Gambar 11. Hasil Uji Penentuan KBM Infusa Daun Sirsak Terhadap *E. coli* ATCC 35218 Pada Media Mc Conkey



Gambar 12. Hasil Uji Penentuan KBM Kontrol Infusa Daun Sirsak Terhadap *E. coli* ATCC 35218 Pada Media Mc Conkey

Keterangan:

- | | |
|--------------------------|---|
| I. Konsentrasi 100% b/v | VII. K ₁ = Kontrol pelarut |
| II. Konsentrasi 90% b/v | VIII. K ₂ = Kontrol media |
| III. Konsentrasi 80% b/v | IX. K ₃ = Kontrol infusa |
| IV. Konsentrasi 70% b/v | X. K ₄ = Kontrol positif |
| V. Konsentrasi 60% b/v | XI. K ₅ = Kontrol suspensi bakteri |
| VI. Konsentrasi 50% b/v | <i>E. Coli</i> ATCC 35218 |

Hasil uji penentuan Kadar Bunuh Minimum (KBM) infusa daun sirsak dapat dibuat tabel 3

Tabel 3. Hasil Penentuan KBM Infusa Daun Sirsak Terhadap *E. coli* ATCC 35218

No.	Kadar (%b/v)	Hasil pengamatan		
		Petri I	Petri II	Perti III
I.	100	+	+	+
II.	90	+	+	+
III.	80	+	+	+
IV.	70	+	+	+
V.	60	+	+	+
VI.	50	+	+	+
VII.	K ₁	-	-	-
VIII.	K ₂	-	-	-
IX.	K ₃	-	-	-
X.	K ₄	-	-	-
XI.	K ₅	+	+	+

Keterangan:

- | | |
|--------------------------|---|
| I. Konsentrasi 100% b/v | VII. K ₁ = Kontrol pelarut |
| II. Konsentrasi 90% b/v | VIII. K ₂ = Kontrol media |
| III. Konsentrasi 80% b/v | IX. K ₃ = Kontrol infusa |
| IV. Konsentrasi 70% b/v | X. K ₄ = Kontrol positif |
| V. Konsentrasi 60% b/v | XI. K ₅ = Kontrol suspensi bakteri |
| VI. Konsentrasi 50% b/v | <i>E. Coli</i> |

+ = Tumbuh koloni

- = Tidak tumbuh koloni

Hasil uji metode dilusi cair didapatkan harga KBM yang berbeda, untuk *S. aureus* ATCC 25923 pada kadar 85% b/v sedangkan pada *E. coli* ATCC 35218 sampai pada kadar 100% b/v tidak dapat membunuh atau tidak menunjukkan aktivitas antibakterinya. Hal ini mungkin disebabkan karena adanya perbedaan komponen penyusun dinding sel antara bakteri Gram positif dengan bakteri Gram negatif. Dinding sel merupakan bagian yang terpenting dari sel bakteri karena berfungsi menyediakan komponen struktural yang kaku dan kuat sehingga memberi bentuk sel. Dinding sel bakteri Gram positif strukturnya lebih sederhana dibandingkan struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang lebih kompleks. Kompleksitas dinding sel bakteri tersebut kemungkinan dapat menghambat obat yang diujikan.

Pada kuman Gram positif, dinding sel terutama terdiri dari peptidoglikan dan asam teikoat. Peptidoglikan merupakan polimer kompleks yang terdiri dari rangkaian asam N-asetil glukosamin dan asam N-asetil muramat yang disusun secara berganti-ganti. Pada kuman Gram negatif, dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan, lipoprotein selaput luar, dan lipopolisakarida. Lipopolisakarida dinding sel Gram negatif terdiri dari suatu lipid yang kompleks, yang dinamakan Lipid A.⁹

Susunan yang kompleks pada bakteri Gram negatif menimbulkan rintangan yang besar untuk ditembus oleh suatu antibakteri, sehingga KBM infusa daun sirsak terhadap *E. coli* lebih besar dibandingkan terhadap *S. aureus*. Jadi dapat disimpulkan bahwa infusa daun sirsak lebih potensial sebagai antibakteri dalam membunuh bakteri Gram positif daripada Gram negatif.

C. Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bisa dikatakan sebagai uji pendahuluan dalam pemeriksaan kandungan kimia yang terdapat dalam suatu tumbuhan. Uji ini relatif murah dengan menggunakan pereaksi kimia yang hanya sedikit jumlahnya dan penanganannya sederhana. Sebelum melakukan pemeriksaan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis, ada baiknya pemeriksaan kualitatif dengan skrining fitokimia dilakukan. Hasil pemeriksaan skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pemeriksaan Kandungan Kimia Tumbuhan dengan Skrining Fitokimia

No.	Uji	Hasil pengamatan	Hasil uji
1.	Uji pendahuluan (senyawa bergugus kromofor)	Larutan berwarna kuning dan dengan penambahan KOH 1N warna menjadi lebih intensif	Positif
2.	Uji polifenol	Larutan berwarna biru kehijauan setelah ditambah pereaksi FeCl_3	Positif
3.	Uji alkaloid	Larutan Ia berwarna kuning jernih setelah ditambah Prx. Dragendorff → tidak ada endapan Larutan Ib berwarna kuning jernih setelah ditambah Prx. Mayer → larutan berwarna kehijauan dan terbentuk endapan	Positif
4.	Uji saponin	Serbuk dikocok kuat-kuat bersama aquades larutan membentuk busa tapi tidak stabil setelah didiamkan selama 30 menit	Negatif
5.	Uji tanin	Filtrat ditambah larutan NaCl 2% tidak terbentuk suspensi	Negatif

D. Hasil Pemeriksaan KLT

Gambaran mengenai kandungan yang terdapat dalam infusa daun sirsak diperoleh dengan melakukan pemeriksaan kandungan kimia secara Kromatografi Lapis Tipis. Kromatografi Lapis Tipis merupakan salah satu cara pengujian dalam standarisasi simplisia, yang mana cara ini mempunyai tingkat kepekaan yang cukup tinggi, cepat, sederhana, dan relatif murah.

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ini dilakukan terhadap senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam infusa daun sirsak yang berkhasiat sebagai antibakteri yaitu flavonoid, polifenol, dan alkaloid. Deteksi yang dilakukan dengan menggunakan sinar UV_{254} nm, UV_{366} nm, dan pereaksi-pereaksi semprot yang spesifik untuk menampakkan bercak.

1) Flavonoid

Untuk mendeteksi senyawa yang termasuk dalam golongan flavonoid ini digunakan fase diam Silika gel GF_{254} dan fase gerak etil asetat-asam formiat-asam asetat-air (100:11:11:27). Deteksi yang dilakukan dengan menggunakan sinar UV_{254} nm, sinar UV_{366} nm, dan pereaksi semprot AlCl_3 .

Flavonoid akan menunjukkan pemadaman bercak pada UV_{254} nm sedangkan pada UV_{366} nm bercak akan berfluoresensi kuning gelap, hijau atau biru (Wagner, 1984). Setelah diuapi dengan uap amoniak atau disemprot dengan AlCl_3 flavonoid akan memberikan warna kuning.¹⁰

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah diamati pada sinar UV $_{254\text{ nm}}$ terjadi pemadaman pada semua bercak, sedangkan pada UV $_{366\text{ nm}}$ ada tiga bercak memberi warna biru tua begitupun dengan pembanding rutin. Dan setelah disemprot dengan AlCl_3 memberikan warna kuning pada satu bercak di Rf 0,42 yang hampir mendekati dengan harga Rf standar rutin yaitu 0,43. Hal ini menunjukkan bahwa infusa daun sirsak mengandung senyawa flavonoid. Hasil bercak dapat dilihat pada tabel 5 berikut dan keterangan gambar 14.

Tabel 5. Data bercak dan harga Rf pada pemeriksaan flavonoid hasil KLT

Bahan	Deteksi						Dugaan
	Rf	UV $_{254\text{ nm}}$	Rf	UV $_{366\text{ nm}}$	Rf	AlCl_3	
Infusa	0,13	Pemadaman	0,13	Coklat	0,13	Coklat hitam	-
	0,42	Pemadaman	0,17	Kelabu	0,42	Kuning	+
	0,52	Pemadaman	0,27	Putih kelabu	0,52	Coklat kelabu	-
	0,55	Pemadaman	0,42	Biru tua			
			0,52	Biru tua			
	0,82	Pemadaman	0,62	Kelabu			
Rutin	0,43	Pemadaman	0,43	Biru tua	0,43	Kuning	+



Sinar UV $_{254\text{ nm}}$



Sinar UV $_{366\text{ nm}}$



AlCl_3

Gambar 14. Kromatogram Lapis Tipis Infusa Daun Sirsak Untuk Pemeriksaan Flavonoid

Fase diam = Silika gel GF $_{254}$
 Fasegerak = Etil asetat - asam formiat - asam asetat - air (100:11:11:27)
 Sampel = Infusa daun sirsak
 Pembanding = Rutin
 Jarak rambat = 8,5 cm
 Deteksi = UV $_{254\text{ nm}}$, UV $_{366\text{ nm}}$, dan pereaksi semprot AlCl_3

2) Polifenol

Pada pengujian kandungan polifenol dalam infusa daun sirsak diambil dan ditotolkan dalam silika gel GF₂₅₄ dan dengan fase gerak etil asetat-metanol-asam formiat (60:30:10). Deteksi yang digunakan dalam identifikasi polifenol ini dengan sinar UV₂₅₄ nm, sinar UV₃₆₆ nm, dan pereaksi semprot FeCl₃.

Senyawa fenol mempunyai ciri khas yaitu adanya inti benzena yang mengikat gugus hidroksi. Fenol sederhana hanya mempunyai satu fenol sedangkan polifenol memiliki lebih dari satu senyawa fenol. Pereaksi feri klorida akan menunjukkan warna biru kehijauan. Hasil pemeriksaan dengan KLT didapatkan bercak dengan Rf 0,59 yang berwarna hijau kelabu setelah disemprot dengan FeCl₃, ini menunjukkan bahwa dalam infusa daun sirsak mengandung polifenol. Hasil uji kromatografi polifenol dan Rf dapat dilihat pada tabel 6 dan gambar 15.

Tabel 6. Data bercak dan harga Rf pada pemeriksaan polifenol hasil KLT

Deteksi						Dugaan
Rf	UV ₂₅₄ nm	Rf	UV ₃₆₆ nm	Rf	FeCl ₃	
0,09	Pemadaman	0,34	Biru	0,59	Hijau kelabu	Positif
0,59	Pemadaman	0,53	Biru kelabu			
		0,59	Biru tua			
		0,89	Biru kelabu			

Sinar UV₂₅₄ nmSinar UV₃₆₆ nmFeCl₃

Gambar 15. Kromatogram Lapis Tipis Infusa Daun Sirsak Untuk Pemeriksaan Polifenol

Fase diam = Silika gel GF₂₅₄
 Fase gerak = Etil asetat-metanol-asam formiat (60:30:10)
 Sampel = Infusa daun sirsak
 Jarak rambat = 8,5 cm
 Deteksi = UV₂₅₄ nm, UV₃₆₆ nm, dan pereaksi semprot FeCl₃

3) Alkaloid

Untuk mendeteksi senyawa yang termasuk dalam golongan alkaloid ini digunakan fase diam Silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak metanol-asam formiat (100:1,5). Deteksi yang dilakukan dengan menggunakan sinar UV₂₅₄ nm, sinar UV₃₆₆ nm, dan pereaksi Dragendorff.

Wagner tahun 1984⁸ menyatakan bahwa alkaloid bila dilihat dibawah sinar UV $_{254\text{ nm}}$ akan terjadi pemadaman bercak, sedangkan pada UV $_{366\text{ nm}}$ bercak akan berflouresensi biru, hijau biru atau ungu. Dan bila disemprot dengan pereaksi Dragendorff bercak akan berwarna coklat atau coklat orange. Dari hasil pemeriksaan dengan KLT didapatkan dua bercak yang mengalami pemadaman bila dilihat pada sinar UV $_{254\text{ nm}}$, sedangkan pada sinar UV $_{366\text{ nm}}$ terlihat enam bercak yang mana ada yang menunjukkan warna biru. Dan setelah disemprot dengan Dragendorff terlihat satu bercak saja yang berwarna kuning orange dengan Rf 0,32. Jelasnya hasil uji kromatografi alkaloid dan Rf dapat dilihat pada tabel 7 dan gambar 16.

Tabel 7. Data Bercak dan Harga Rf Pada Pemeriksaan Alkaloid Hasil KLT

Bahan	Deteksi						Dugaan
	Rf	UV $_{254\text{ nm}}$	Rf	UV $_{366\text{ nm}}$	Rf	Dragendorff	
Infusa	0,32	Pemadaman	0,06	Kelabu	0,32	Kuning orange	+
	0,72	Pemadaman	0,25	Kelabu			
			0,32	Biru kelabu			
			0,60	Biru			
			0,72	Kelabu			
			0,79	Merah			
Kinin	0,35	Pemadaman	0,35	Biru kelabu	0,35	Kuning orange	+



Sinar UV $_{254\text{ nm}}$



Sinar UV $_{366\text{ nm}}$



Dragendorff

Gambar 16. Kromatogram Lapis Tipis Infusa Daun Sirsak Untuk Pemeriksaan Alkaloid

Fase diam = Silika gel GF $_{254}$
 Fase gerak = Metanol-asam formiat (100:1,5)
 Sampel = Infusa daun sirsak
 Pembanding = Kuinin
 Jarak rambat = 8,5 cm
 Deteksi = UV $_{254\text{ nm}}$, UV $_{366\text{ nm}}$, dan pereaksi Dragendorff

E. Hubungan Kandungan Kimia Infusa Daun Sirsak dengan Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri infusa daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 35218 menunjukkan bahwa infusa daun sirsak dapat membunuh *S. aureus* pada KBM 85% b/v sedangkan pada *E. coli* sampai kadar 100% b/v tidak dapat membunuh atau tidak menunjukkan aktivitas antibakterinya, sehingga infusa daun sirsak lebih poten membunuh *S. aureus* daripada *E. coli*. Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh bahan antibakteri dapat melalui beberapa mekanisme. Pada penelitian ini belum dapat ditentukan dengan pasti mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri uji. Dari uji tabung dan identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis infusa daun sirsak mengandung senyawa flavonoid, polifenol, dan alkaloid. Flavonoid dan polifenol merupakan senyawa fenol, turunan fenol bekerja sebagai antiseptik dan disinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri. Pada konsentrasi rendah terbentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol kedalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein sel dan sel membran mengalami lisis. Turunan fenol juga dapat mengubah permeabilitas membran sel, dapat menimbulkan kebocoran konstituen sel yang esensial sehingga bakteri mengalami kematian.¹¹ Alkaloid merupakan senyawa basa, efek bakterisida senyawa basa disebabkan oleh denaturasi protein.

4. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

- 1) Infusa daun sirsak (*Annona muricata* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218.
- 2) Nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) infusa daun sirsak (*Annona muricata* L.) tidak dapat ditentukan karena larutan uji tampak coklat tua sehingga adanya kekeruhan akibat pertumbuhan bakteri tidak dapat diamati. Sedangkan nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) infusa daun sirsak terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi 85% b/v dan untuk *Escherichia coli* ATCC 35218 sampai pada konsentrasi 100% b/v tidak dapat membunuh atau tidak poten.
- 3) Profil kromatografi menunjukkan bahwa infusa daun sirsak mengandung golongan senyawa flavonoid, polifenol, dan alkaloid

B. Saran

- 1) Perlu dilakukan lebih lanjut isolasi terhadap senyawa flavonoid, polifenol, dan alkaloid kemudian diuji aktivitas antibakterinya.
- 2) Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri sirsak dalam bentuk sediaan yang lain.
- 3) Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri sirsak menggunakan bagian tanaman yang lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wattimena, J.R., *Farmakodinami dan Terapi Antibiotik*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta. 1991
2. Donatus, L.A., Wahyono, D., Gunawan, D., Mulyono, T., *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III*, Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. 1983
3. Rahardja, K., Tjay, T.H., *Obat-Obat Penting*, Edisi Kelima, PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta. 2002
4. Anonim, *Graviola*: <http://www.rain-tree.com/Graviola-Monograph.pdf>. 2007
5. Hutapea, J.R., *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Jilid 2, Bada Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 1993
6. Van Steenis, C.G.G.J., 1997, *Flora Untuk Sekolah Di Indonesia*, Cetakan Ketujuh, PT Pradnya Paramita, Jakarta, 201.
7. Nurani, L.H., Zaenab, *Petunjuk Praktikum Analisa Obat Tradisional*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta. 2006
8. Wagner, H., Badt, S., Zginski, E.M., *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*, Translated by Schoot, Spenger Verlag, Tokyo. 1984
9. Jawetz, E. Melnick, J.L., Adelberg, E.A., *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*, Edisi 16, diterjemahkan oleh Bonang Gerard, CV. EGC, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta. 1986
10. Harborne, J.B., *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terbitan Kedua, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, ITB, Bandung. 1987
11. Siswandono & Soekardjo, B., *Kimia Medisinal*, Airlangga University Press, Surabaya. 1995